

慢性腎臓病における低ギ酸血症とその意義に関する 検討

著者	宮澤 恵実子
号	83
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第3201号
URL	http://hdl.handle.net/10097/57958

氏 名	みやざわ えみこ 宮澤 恵実子
学 位 の 種 類	博士 (医学)
学位授与年月日	平成 26 年 3 月 26 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 (博士課程) 医科学専攻
学 位 論 文 題 目	慢性腎臓病における低ギ酸血症とその意義に関する検討
論 文 審 査 委 員	主査 教授 伊藤 貞嘉 教授 佐藤 博 教授 清元 秀泰 教授 笹野 公伸

論 文 内 容 要 旨

ギ酸は急性メタノール中毒の際にメタノールから過剰生成され、重篤な代謝性アシドーシスや神経毒性を引き起こす物質として広く知られている。メタノールの危険摂取量や血中濃度に関する検討は散見される一方、ギ酸に関しては、急性メタノール中毒の昏睡例での検討で、治療前血中ギ酸濃度が 640-1100 mg/L との報告があるものの、致死濃度に関しては具体的な言及は報告が無い。さらに、ギ酸は生体内のいくつかの重要な生理作用を担っているにも関わらず、健常例における濃度分布や代謝経路に関しては不明な点が多い。疾病との関連に関しては、急性メタノール中毒例を除けば臨床的検討は無く、慢性疾患例でのギ酸の体内状態は全く不明である。

一方で、ギ酸はホルミル化反応において、基質として働き、生体内において生理的に重要かつ必須の物質でもある。その 1 つはギ酸と葉酸から生成されるホルミル・テトラヒドロ葉酸が関与する *de novo* 核酸合成代謝経路である。この中で、ギ酸はプリン体 C2、C8 部位の炭素原子の供与体となっている。また、ホルミル化されたメチオニン是好中球表面に存在するホルミルペプチド受容体(FPR)を介して ATP 放出を促し、好中球の走化性を刺激する。したがって、ギ酸の欠乏はホルミル化反応を介した核酸合成や免疫応答に影響を与える可能性が想定される。

そこで本学位論文では、まず、健常例ならびに種々の生活習慣病患者を対象にギ酸血中濃度を測定し各種病態・疾病との関連を検討した。対象例は健診受診例と腎臓内科外来受診例の総 418 例を対象とし、健常例におけるギ酸濃度分布、各種疾病群のギ酸濃度の比較を行った。ギ酸濃度測定は HPLC 法によって行った。年齢、性別、喫煙習慣、飲酒習慣、生活習慣病 (高血圧、脂質異常、高血糖、高尿酸血症、肥満、慢性腎臓病) との関連を検討したところ、高血圧症、糖尿病、高尿酸血症、ならびに慢性腎臓病 (腎機能) との間に有意な違いが認められた (血圧 140/90 mmHg 未満例 vs. 以上例: 3.51 ± 1.35 mg/L, 2.45 ± 1.36 mg/L; $p < 0.001$ 、耐糖能正常例 vs. 糖尿病例: 3.41 ± 1.29 mg/L, 2.41 ± 1.59 mg/L; $p < 0.001$ 、尿酸正常例 vs. 高尿酸血症例: 3.56 ± 1.19 mg/L, 2.44 ± 1.56 mg/L; $p < 0.001$ 、糸球体濾過量 60 ml/min 以上例 vs. 未満例: 3.71 ± 1.16 mg/L, 1.98 ± 1.26 mg/L; $p < 0.001$)。各種交絡因子で補正した多変量解析では腎機能は独立した影響因子であった。また、腎機能をより詳細に分類し検討したところ、腎機能の低下に伴いギ酸が低値となることが明らかとなり、一方で維持透析例ではこの傾向が是正されていたことより、ギ酸濃度が尿毒症環境と密接に関係していることが示唆された。

以上の結果を踏まえて、次に、慢性腎臓病でのギ酸低下の原因背景を検討した。生体内のギ酸産生はトリプトファンを前駆体とする経路、解糖系代謝過程で発生する毒性の強いカルボニル物質メチルグリオキサル(MGO)の、酸化代謝で産生される経路などが指摘されている。本検討では血中ギ酸濃度とトリプトファン濃度との間に強い正の相関が認められ、さらにトリプトファン濃度は腎機能低下例で有意に低下していた。一方で、腎機能障害は酸化ストレス条件であり、腎不全ではMGO濃度の上昇と酸化ストレスの亢進が報告されている⁽¹³⁾。したがって、慢性腎臓病のギ酸低下はメチルグリオキサル代謝の面からは説明することはできなかった。

次に、低ギ酸状態の意義に関する検討を行った。培養系細胞ではギ酸添加により ATP 量が増加することが報告されている。そこで、細胞レベルにおける ATP 産生あるいは放出への影響について検討した。洗浄血液浮遊液において、ギ酸の添加により ATP 濃度はギ酸濃度 0~20 mg/L の範囲で増加した。次に、赤血球、単核球、好中球それぞれの検討では、ギ酸の負荷により好中球のみが濃度依存性の ATP 増加反応を示した。この観察結果から、ギ酸は直接的あるいは間接的な機序を介して好中球の ATP 産生増加もしくは放出促進に関与し、低ギ酸状態では好中球からの ATP の産生、放出低下に関わる可能性が示唆された。一方、好中球表面にはホルミルペプチド受容体(FPR)が発現しており、ギ酸によりホルミル化されたメチオニンはこの FPR を介して ATP 放出を促し、好中球の走化性を刺激する。そこで、FPR アンタゴニストを用いて好中球における ATP 変化を確認したところ、上記 ATP 増加反応は抑制された。これらの結果より、低ギ酸状態が好中球からの ATP 放出反応の低下に関わる可能性が想定された。

以上まとめると、慢性腎臓病ではギ酸濃度が特異的に低値であることがわかり、この原因にギ酸の前駆体であるトリプトファン欠乏が関与している可能性があることが確認された。また、低ギ酸状態が好中球からの ATP 放出低下に関与している可能性が示唆された。

好中球の ATP 放出反応は遊走性に関連しており、この障害は易感染状態を惹起する。慢性腎臓病では好中球機能異常や免疫異常による感染症関連死のリスクが高いことが知られているが、この病態の一部に低ギ酸状態に関連しているかもしれない。今後、慢性腎臓病における低ギ酸状態と好中球機能との関連を明らかにすることで、トリプトファンやギ酸を補完治療として用いるなど、臨床的に新たな治療法の開発に繋がる可能性もあり、臨床的意義があると考えられる。

審 査 結 果 の 要 旨

博士論文題名 慢性腎臓病における低ギ酸血症とその意義に関する検討

所属専攻・分野名 医科学 専攻 腎・高血圧・内分泌学分野

氏名 宮澤 恵実子

ホルミル化物質は生体内のいくつかの重要な生理作用に関わっている。このホルミル化反応においてギ酸は重要な基質となっている。その1つはホルミル・テトラヒドロ葉酸であり、ギ酸は核酸合成においてプリン体への炭素原子供与体となり、*de novo* 核酸合成に必須の物質となっている。また、ホルミル化されたメチオニン是好中球表面に存在するホルミルペプチド受容体(FPR)を介して ATP 放出を促し、好中球の遊走性を刺激する。したがって、ギ酸の欠乏はホルミル化反応を介した核酸合成や免疫応答に影響を与える可能性が想定される。しかしながら、ギ酸の健常例における濃度分布についても不明な部分が多く、さらに、ギ酸と疾病との関連に関しては、急性メタノール中毒における過剰産生による中毒が知られているものの、その他の臨床的検討はない。本研究で宮澤はまず健常例ならびに種々の生活習慣病患者を対象にギ酸血中濃度を測定し、各種病態・疾病との関連を検討した。対象例は検診受診例と腎臓内科外来受診例の総 418 例を対象とし、健常例におけるギ酸濃度分布、各種疾病群のギ酸濃度の比較を行った。ギ酸濃度測定は HPLC 法によって行った。その結果、高血圧症、糖尿病、高尿酸血症、または慢性腎臓病(GFR 60ml/min 未満)を有する患者はギ酸濃度が有意に低かった。各種交絡因子で修正した多変量解析では腎機能は独立した影響因子であった。次に腎機能低下例におけるギ酸濃度低下の原因、それによる病態への関与についての検討を行った。生体内のギ酸産生はトリプトファンを前駆体とする経路、糖代謝の過程で発生するメチルグリオキサールの酸化的代謝で産生される経路などが指摘されている。本検討では血中ギ酸濃度とトリプトファン濃度との間に正の相関が認められ、さらにトリプトファン濃度は腎機能低下例で有意に低下していた。腎機能低下例におけるギ酸低下にはトリプトファン低下が原因として関与している可能性が示唆された。さらに低ギ酸と病態との関わりに関して、細胞レベルにおける ATP 産生あるいは放出への影響について検討した結果、ギ酸の負荷により好中球が濃度依存性に ATP 増加反応を示した。この観察結果から、低ギ酸状態は好中球からの ATP の産生、放出低下に関わる可能性が示唆された。以上の結果から、慢性腎臓病ではギ酸濃度が特異的に低値であること、この原因にギ酸の前駆体であるトリプトファン欠乏が関与している可能性があること、ギ酸低下は好中球からの ATP 産生、放出低下に関与している可能性が確認された。

本研究論文はこれまで知られていないギ酸の動態を明らかにした極めてオリジナリティが高い内容である。考察も十分である。よって、本論文は博士(医学)の学位論文として合格と認める。